

## NOTICES \*

**JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.**

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

**CLAIMS**

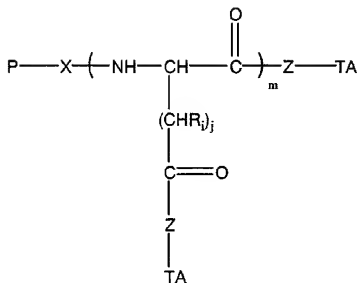

---

[Claim(s)]

[Claim 1]

Bond products which are bond products, are bond products of hydrophilic polymer multi-carboxyl oligopeptide and a drugs molecule, and are expressed with a following formula.

[Chemical formula 1]



Inside of the above-mentioned formula :

P is water-soluble polymer,

m is an integer of 2-12,

j is an integer of 1-6,

R<sub>i</sub> is a basis chosen from a group which consists of H, an alkyl group of C<sub>1-12</sub>, a substitution aryl group, an aralkyl group, a heteroalkyl group, and a substituted alkyl group,

X is a crosslinking group,

Z is a crosslinking group chosen from O and NH,

TA is a drugs molecule.

[Claim 2]

Bond products which are the bond products according to claim 1, and are water-soluble polymer chosen from a group which said water-soluble polymer becomes from a polyethylene glycol, a polypropylene glycol, polyvinyl alcohol, polyacrylic morpholines, and these copolymers.

[Claim 3]

Bond products in which it is the bond products according to claim 2, and said water-soluble polymer is a polyethylene

glycol.

[Claim 4]

Bond products whose molecular weights of said polyethylene glycol it is the bond products according to claim 3, and are 300-60,000.

[Claim 5]

Bond products in which it is the bond products according to claim 1, and said crosslinking group X is  $(\text{CH}_2)_i$  and  $(\text{CH}_2)_i\text{OCO}$ ,  $(\text{CH}_2)_i\text{NHCO}$ , or  $(\text{CH}_2)_i\text{CO}$  and whose i is an integer of 0-10.

$(\text{CH}_2)_i\text{NHCO}$ , or  $(\text{CH}_2)_i\text{CO}$  and whose i is an integer of 0-10.

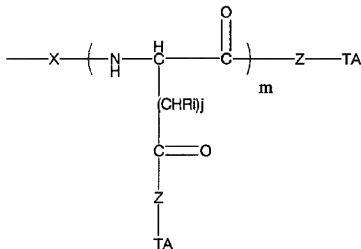
[Claim 6]

Bond products by which a free hydroxyl group of said hydrophilic polymer is replaced with an alkoxy group, a cycloalkoxy group, or an AROKISHIRU group of  $\text{C}_{1-12}$  and in which are the bond products according to claim 1, and it deals.

[Claim 7]

A bonding composition in which is the bond products according to claim 1, and a free hydroxyl group of said hydrophilic polymer is replaced by thing of a following formula, and deals.

[Chemical formula 2]



Inside of the above-mentioned formula :

x, m, j, R, Z, and TA are the same as a definition in Claim 1.

[Claim 8]

Bond products which delivery which it is the bond products according to claim 1, and said hydrophilic polymer held a target molecule, and set a target of said bond products does.

[Claim 9]

Bond products in which it is the bond products according to claim 8, and said target molecule is an antibody.

[Claim 10]

Are the bond products according to claim 1, and said drugs partial TA Amino acid, protein, an enzyme, a nucleoside, sugars, organic acid, glucoside, flavonoid, quinone, terpenoid, and phenylpropano -- ide -- bond products which are any one chosen from a group which consists of phenol, steroid, such glucosides, and alkaloid.

[Claim 11]

A bonding composition in which it is the bond products according to claim 10, and said drugs partial TA is an active principle of natural medicine.

[Claim 12]

Bond products in which it is the bond products according to claim 11, and said natural active principle is ball fern

FAGIN, glycyrrhetic acid, or scopoletin.

[Claim 13]

A joint back living thing in which it is the bond products according to claim 10, and said drugs partial TA is an antitumor agent.

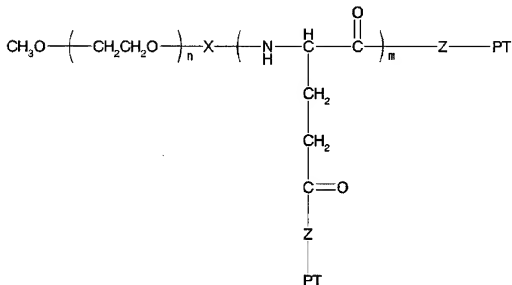
[Claim 14]

Bond products which are the bond products according to claim 13, and are the antitumor agents chosen from a group which said antitumor agent becomes from paclitaxel, camptothecin, hydroxyl camptothecin, etoposide, and these derivatives.

[Claim 15]

Bond products which are bond products, are bond products of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide and a drugs molecule, and are expressed with a following formula.

[Chemical formula 3]



Inside of the above-mentioned formula :

n is an integer of 10-1200,

m is an integer of 2-12,

X is chosen from a group which consists of  $(\text{CH}_2)_i$  and  $(\text{CH}_2)_i\text{OCO}$ ,  $(\text{CH}_2)_i\text{NHCO}$ , and  $(\text{CH}_2)_i\text{CO}$ , and i is a

crosslinking group which is an integer of 0-10,

Z is a crosslinking group chosen from O and NH,

PTs are drugs chosen from a group which consists of paclitaxel, camptothecin, ball fern FAGIN, glycyrrhetic acid, scopoletins, and these derivatives.

[Claim 16]

A constituent which is a constituent and contains the bond products according to any one of claims 1 to 15 and a carrier permitted pharmacologically, or an excipient.

[Claim 17]

A constituent which is the constituent according to claim 16 and contains other remedial active principles further.

[Claim 18]

A constituent by which it is formed in a form of a tablet, suppositories, a pill, software and a hard gelatine capsule agent, powder material, liquids and solutions, suspension, or aerosol and in which is the constituent according to claim 16, and it deals.

[Claim 19]

Use of the bond products according to any one of claims 1 to 15 in medicine manufacture.

[Translation done.]

## \* NOTICES \*

**JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.**

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

## DETAILED DESCRIPTION

---

[Detailed Description of the Invention]

[Field of the Invention]

[0001]

This invention The new bond products of hydrophilic polymer multi-carboxyl oligopeptide (hydrophilic polymer-multicarboxyl oligopeptide) and a drugs molecule, It is related with the use on the pharmaceutical sciences of the medicinal composition containing said bond products and said bond products.

[Background of the Invention]

[0002]

the inside of the active principle of natural medicine -- protein, polypeptide, terpenoid, steroid, ARUKANOIDO, flavonoid, anthraquinone, and phenylpropano -- ide -- phenol has various effect characteristics about bioactive altogether. So, these are widely used in medicine. The example of use of quantity also with most such glucosides, nucleoside, and polypeptide derivative is shown. As a natural active principle, these have a quick biodegradation rate and are [ whether there is any residue and ] the grades of a non-deer.

Toxicity is low and there are whether side effects' occurring and an advantage that it is a grade of a non-deer.

However, still these have low bioavailability, physiological half-life is short, it is lacking in water solubility, and there are inconvenient points, such as having immunogenicity.

[0003]

In order to solve this problem, the derivative of PEG is widely used for combination with protein, peptide, or other treating agents, and extension of such physiological half-life, and these immunogenicity and toxic reduction are tried. Clinically, PEG and its derivative are widely used as a carrier (carrier) for manufacture of commercial pharmaceutical preparation. The trial which combines PEG with a drugs molecule accomplishes this progress remarkable in ten years, and is applied to many formal approval drugs. For example, as compared with the naturally occurring type of alpha-interferon, as for PEG-intronR (trade name) which is bond products (conjugate) of PEG and alpha-interferon, circulation half-life became longer, and the better curative effect was accepted. It is shown that the bond products of PEG and paclitaxel also reduce toxicity and extend bioactive similarly. The metabolic process of these bond products is well-known, and it is shown that PEG is a safe drugs modulator (drug modifier).

[0004]

When combining PGE with drugs, the process called PEG-ization (PEGylation) is used well. In this method, it will have a suitable functional group which it is activated chemically, and one or two end groups of PEG react to at least one functional group of drugs, and forms a stable combination. This stable combination is canceled by decomposition under in vivo relevant conditions, and, thereby, an active principle is emitted.

[0005]

It is reported that PEG is combinable with various drugs. The prodrug of the PEG derivative combined with paclitaxel is indicated by US patent No.5824701, 5840900, and China patent No.CN1283643 (patent documents 1-3). Each of two end groups of PEG has combined with the paclitaxel molecule in these patents. In order to increase the burden of a drugs molecule, US patent No.6153655 is the structure of PEG which the end branched, and teaches the structure where two functional groups are formed by amino bridge construction at the two ends of PEG (patent documents 4).

However, the low-molecular incorporation branched in abiosis study makes the drugs characteristic ambiguous simultaneously. US patent No.5977163, 6262107, and China patent No.CN1164533, It is a prodrug of the paclitaxel which used polyglutamic acid as the carrier, and the prodrug which paclitaxel combined with the activity carboxyl group of glutamic acid at random along with the skeleton of polyglutamic acid is indicated (patent documents 5-7). The uncertainty of the extensive polydispersity and characteristic of polyglutamic acid has restricted application of these invention.

[Patent documents 1] US,5824701,B Description

[Patent documents 2] US,5840900,B Description

[Patent documents 3] The China patent No. 1283643 Description

[Patent documents 4] US,6153655,B Description

[Patent documents 5] US,5977163,B Description

[Patent documents 6] US,6262107,B Description

[Patent documents 7] The China patent No. 1164533 Description

[Description of the Invention]

[Problem to be solved by the invention]

[0006]

Therefore, an object of this invention is to provide the bond products of hydrophilic polymer multi-carboxyl oligopeptide (hydrophilic polymer-multicarboxyl oligopeptide) and a drugs molecule.

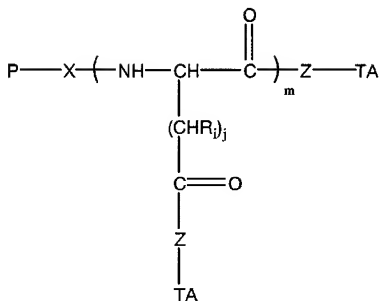
[Means for solving problem]

[0007]

the bond products of the hydrophilic polymer multi-carboxyl oligopeptide and the drugs molecule as which this invention is expressed in a following formula -- providing .

[0008]

[Chemical formula 4]



[0009]

Inside of the above-mentioned formula :

P is water-soluble polymer,

m is an integer of 2-12,

j is an integer of 1-6,

R<sub>i</sub> is a basis chosen from the group which consists of H, the alkyl group of C<sub>1-12</sub>, a substitution aryl group, an aralkyl

group, a heteroalkyl group, and a substituted alkyl group,

X is a crosslinking group,

Z is a crosslinking group chosen from O and NH,

TA is a drugs molecule.

[0010]

the medicinal composition in which this invention contains the above-mentioned bond products as an active principle as other modes -- providing .

[0011]

This invention provides use of the above-mentioned bond products in manufacture of a medicinal composition as other modes further.

[Effect of the Invention]

[0012]

The bond products of this invention can improve absorption of drugs, can extend therapy temporal duration, can enhance a curative effect, can decrease in number dosage, and can avoid toxicity and other side effects.

[Best Mode of Carrying Out the Invention]

[0013]

With reference to figures, this invention is explained more to details below.

[0014]

The hydrophilic polymer used for the bond products of this invention is a polyethylene glycol, a polypropylene glycol, polyvinyl alcohol, polyacrylic morpholines, or these copolymers, for example. Also in these, a polyethylene glycol and its copolymer are preferred. The oligopeptide of the acid oligopeptide of amino acid, and division and glutamic acid is combined with said parent polymer, for example by embellishing free end hydroxyls, such as hydrophilic polymer. This combination provides the binding site (linking sites) of said polymer and a drugs molecule. Thus, protein, peptide or other isolation amino groups, and hydroxyl which are natural medicine active principles are combinable with said polymer. Since suitable drug concentration and self-sustaining discharge are secured in the case of the active principle of low molecule natural medicine, one or more drugs molecules are especially combinable with hydrophilic polymer multi-carboxyl oligopeptide by such a method.

[0015]

In the bond products of this invention, the multi-carboxyl group of glutamic-acid oligopeptide provides many binding sites. Thereby, said bond products show drugs burden (drug load) higher than the usual straight chain PEG carrier. The difference between glutamic-acid oligopeptide and polyglutamic acid is that glutamic-acid oligopeptide has a fixed number of activity carboxyl groups per oligopeptide chain. So, for example, when making it combine with drugs molecules, such as paclitaxel, drugs burden can be checked and repeated. Simultaneously, since drugs, such as paclitaxel, are non-hydrophilic nature, the bond products of a hydrophilic polymer glutamic-acid oligopeptide drugs molecule can form the molecule micell / microsphere structure which consists of many condensation molecules in solution, for example. By this structure, the desirable characteristic, for example, the hydrophilic nature, the pliability, and anti-macrophage \*\*\*\*\* of said hydrophilic polymer are maintainable. On the other hand, said structure gives extension of the reservoir time in sustained-release [ of a drugs molecule ], and in vivo ones of drugs molecule division natural medicine.

[0016]

One of the advantages of this invention is that discharge of effective blood drug concentration or gradual drugs is securable, as a result of the basis of oligopeptide providing many binding sites of a drugs molecule in addition to water solubility, non-immunogenicity, avirulence, etc. which are the characteristic of hydrophilic polymer like PEG or its derivative.

[0017]

Next, a PEG derivative is mentioned as an example and combination between hydrophilic polymer and multi-carboxyl oligopeptide is explained.

[0018]

The structure of a PEG derivative contains the portion of the branched chain of a polymer, and the portion of the

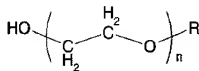
functional group of an end. These can be expressed as follows, respectively.

[0019]

A polyethylene glycol (PEGs) is expressed with a following general formula.

[0020]

[Chemical formula 5]



[0021]

Inside of the above-mentioned formula :

R is an alkyl group of H or C<sub>1-12</sub>,

n is an integer showing a degree of polymerization.

[0022]

As a low-grade alkyl group, the arbitrary numbers of carbon atoms may be the low-grade alkyl groups of 1-6, for example, as for R, a methyl group, an ethyl group, n-propyl group, an isopropyl group, n-butyl group, an isobutyl group, n-pentyl group, n-hexyl group, etc. are raised. As a cycloalkyl group, as for R, preferably, the number of carbon atoms is a cycloalkyl group of 3-7, for example, a cyclopropyl group, a cyclobutyl group, and a cyclohexyl group are raised. Also in these, a cyclohexyl group is more preferred. A typical compound is a methoxy polyethylene glycol (mPEG). Other analogue and derivatives, for example, polypropylene glycol, polyvinyl alcohol, polyacrylic morpholines, etc. of a polyethylene glycol can be similarly used for this invention.

[0023]

About PEGs, it is usually measured with a molecular weight. As a molecular weight of PEG which forms said bond products, when it says by the range of 300-60000 dalton, and n, it is preferred that they are about 6 - about 1300 range. More preferably, n is 28, 112, and 450 and is equivalent to the molecular weights 1325, 5000, and 20000, respectively. although PEGs of the charge of a start material is usually defined by the molecular weight rather than self-repeating unit n, since it is potentially uneven, instead of being characterized and carried out by the self-repeating unit expressed with n, PEGs is generally characterized with weight average molecular weight, and is carried out. The charge PEG compound of a start material of a different molecular weight can be easily compounded using the conventionally publicly known method of the technical field concerned, or a commercial thing can be used for it.

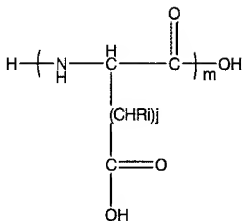
[0024]

Said multi-carboxyl oligopeptide is expressed by the following general formula.

[0025]

[Chemical formula 6]





[0026]

Inside of the above-mentioned formula :

m is an integer of 2-12 showing a degree of polymerization,

j is an integer of 1-6,

R<sub>i</sub> is a basis chosen from the group which consists of H, the alkyl group of C<sub>1-12</sub>, a substitution aryl group, an aralkyl group, a heteroalkyl group, and a substituted alkyl group.

[0027]

As a low-grade alkyl group, the numbers of carbon atoms with arbitrary R<sub>i</sub> may be the low-grade alkyl groups of 1-12. For example, a methyl group, an ethyl group, n-propyl group, an isopropyl group, n-butyl group, an isobutyl group, n-pentyl group, n-hexyl group, a possible cycloalkyl group, etc. are raised. As an aralkyl group, R<sub>i</sub> is benzyl or a phenylethyl group preferably. A desirable substitution aryl group is benzyl.

[0028]

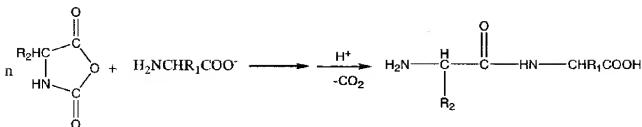
Composition of oligopeptide can be performed by a general method. Amino acid polymer can be manufactured with high yield under the influence of DEHIDORANTO (dehydrant) using protection amino acid. Though natural, since the oligopeptide of this invention is homopolypeptide, there is no problem of structural arrangement. So, a simpler method can be used. For example, a mixed acid anhydride method (mixed acid anhydrides method), An active ester method (active ester method), N-carboxy-alpha-amino-acid anhydride (NCA) method (N-carboxy-a-amino acid anhydrides method), etc. are raised.

[0029]

Said composition is shown below by making N-carboxy-alpha-amino-acid anhydride method into an example.

[0030]

[Chemical formula 7]



[0031]

Said reaction has an advantage of quick reaction velocity and a short synthetic cycle. If said reaction is completed, the

peptide which might have an isolation amino group can be used for the following oligopeptide synthesizing process as it is, without dissociating. A side chain generally has less necessity for protection. The side chain of NCA usually needs protection of a side chain. Only the side chain of lysine and cysteine needs to protect as an amino group ingredient.

[0032]

A multi-carboxyl oligopeptide compound can be easily compounded using the conventionally publicly known method of the technical field concerned, or a commercial thing can be used for it.

[0033]

Said hydrophilic polymer glutamic-acid oligopeptide portion of this invention is compounded from hydrophilic polymer and glutamic acid using the conventionally publicly known method of the technical field concerned.

[0034]

When actually applying, it is activated, the end group of hydrophilic polymer reacts to the amino group of oligopeptide, or a carboxyl group, and it is made to have bond products formed. An end functional group can be embellished by the following methods about the use to mean.

a: Amination

If hydrophilic polymer is aminated, hydroxyl will turn into an amino group which is excellent with reactivity. It is important, especially when said polymer reacts to the molecule containing a carboxyl acid radical and produces bond products.

b: Carboxylation

Carboxylation of hydrophilic polymer improves the reactivity and makes it possible to combine with the molecule containing an amino group or a carboxyl group.

c: All other methods of the modification by an acyl chloride, hydrazine, maleimide, and pyridinedisulfide are employable suitably in a similar manner.

[0035]

All the methods of the above-mentioned list will form a chemical bond between hydrophilic polymer and the functional group of oligopeptide. So, the advantage of said two compounds is utilizable.

[0036]

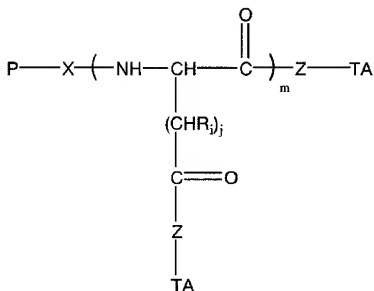
All the drugs used now, especially natural medicines contain functional groups, such as an amino group, a carboxyl group, and hydroxyl, for example. In in vivo one, it can combine with monosaccharide, polysaccharide, a nucleoside, a poly nucleoside, phosphoryl, etc., and these functional groups form the structure which has activity pharmacologically by in vivo one.

[0037]

Therefore, similarly, it can combine with a drugs molecule and water-soluble polymer multi-oligopeptide conquers the fault of the shortness of physiological half-life, or the shortness of therapy temporal duration instead of a living thing organicity molecule. The hydrophilic polymer multi-carboxyl oligopeptide of this invention is expressed with a following formula.

[0038]

[Chemical formula 8]



[0039]

Inside of the above-mentioned formula :

P may be water-soluble polymer, may be a polyethylene glycol, a polypropylene glycol, polyvinyl alcohol, polyacrylic morpholines, or these copolymers, and is a polyethylene glycol and its copolymer preferably,

m is an integer of 2-12,

j is an integer of 1-6,

$\text{R}_i$  is a basis chosen from the group which consists of H, the alkyl group of  $\text{C}_{1-12}$ , a substitution aryl group, an aralkyl group, a heteroalkyl group, and a substituted alkyl group,

X is a crosslinking group, preferably, it is  $(\text{CH}_2)_i$  and  $(\text{CH}_2)_i\text{OCO}$ ,  $(\text{CH}_2)_i\text{NHCO}$ , and  $(\text{CH}_2)_i\text{CO}$ , and i is an integer of

1-10,

Z is a crosslinking group chosen from O and NH,

TA is a drugs molecule.

[0040]

Said hydroxyl can be blocked with the alkoxyl group, cycloalkoxyl group, or AROKISHIRU (aroxyl) group of  $\text{C}_{1-12}$  when said hydrophilic polymer contains a free hydroxyl group. Preferably, they are a methoxyl group, ethoxyl, isopropoxyl, cyclo propoxyl, a cyclobutoxyl group, a cyclo HEKISOKISHIRU group, or a benzo KISHIRU group.

[0041]

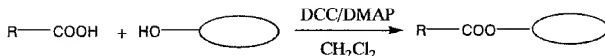
In addition, for example, target molecules, such as an antibody, are combinable with said hydrophilic polymer, a target can be set and delivery of the bond products of this invention can be carried out.

[0042]

Hydrophilic polymer is combinable with a drugs molecule by an esterification reaction. A following formula can express this process briefly.

[0043]

[Chemical formula 9]



[0044]

An ester group is canceled by biodegradation by in vivo one, and an active principle is emitted.

[0045]

Suitable drugs molecules with a drugs portion of bond products arbitrary in this invention may be sufficient, for example, amino acid, protein, an enzyme, a nucleoside, sugars, organic acid, glycoside, flavonoid, quinone, terpenoid, and phenylpropano -- ide -- phenol, steroid and such glycosides, alkaloid, etc. are raised.

[0046]

Preferably, the drugs molecule contained in the bond products of this invention is an active principle separated from natural plants, for example, are ball fern FAGIN, glycyrrhetic acid, and scopoletin. More preferably, said drugs molecules are natural medicinal components used for an oncotherapy, for example, are paclitaxel, camptothecin, hydroxyl camptothecin, etoposide, and these derivatives.

[0047]

With the form of refining compounds or the constituent permitted pharmacologically, the bond products of this invention are included in the arbitrary routes of administration permitted or the reagent used similarly, and may be prescribed for the patient. Thus, said bond products according to taking orally, pernasality, parenteral, a part, transderma, or a rectum course. A medicine can be prescribed for the patient with medication forms, such as a solid, a semi solid, freeze-dry powder or the medication form of a liquid, for example, a tablet, suppositories, a pill, software and a hard gelatine capsule agent, powder material, liquids and solutions, suspension, and aerosol. A unit medication form (unit dosage forms) suitable for exact dosage and simple administration is preferred. Said constituent contains said bond products as the conventional pharmacological carrier or an excipient, and an active principle (one or more). Said constituent may also contain the drugs, carrier, and adjuvant of further others.

[0048]

Generally, although it is dependent on a desired medication method, the constituent permitted pharmacologically contains the bond products of about 1 to 99% of this invention, and 99 to 1% of pharmacologically suitable excipient. The bond products contained in a constituent are 5 to 75% preferably, and the remainder is the pharmacologically suitable excipient.

[0049]

For example, said constituent prescribed for the patient with the form of liquids, such as liquids and solutions and suspension, can be prepared by making a carrier dissolve or distribute the bond products (about 0.5 to 20%) and the arbitrary pharmacological adjuvants of this invention. Water, a salt solution, glucose water, glycerol, ethanol, etc. are contained in the carrier for forming liquids and solutions or suspension, for example.

[0050]

The constituent of this invention may also contain a wetting agent, an emulsifier, pH buffer, an anti-oxidant, etc. if needed further, for example. As an example, citrate, sorbitan monolaurate (sorbitan monolaurate), triethanolamine oleate (oleate), butylated hydroxytoluene, etc. are raised.

[0051]

The actual preparing method of such a medication form is publicly known or obvious to the engineer of the technical field concerned, For example, Ramington's Pharmaceutical Sciences and 18<sup>th</sup> edition (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990) can be referred to. At any rate, according to the technology of this invention, the constituent used can treat the corresponding illness including an effective amount of bond products concerning this invention.

[0052]

(EXAMPLE)

Bond products of this invention and a preparing method for the same are further explained with reference to the following embodiment. However, no matter what cases these embodiments may be, they do not restrict the range of this invention. The range of this invention is restricted only to Claim.

[Work example 1]

[0053]

**Preparation (1) of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide**

Drawing 1 shows the synthesizing method of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide. 10 The methoxy polyethylene glycol of g ( ) [ methoxypolyethylene glycol and ] Molecular weight: 5000 and N,N'-disuccinimidylcarbonate (N, N'-disuccinimidyl carbonate) of 2 g were dissolved in acetonitrile of 100 ml, and the dry pyridine of 0.5 ml was added further. The reaction mixture was stirred by a room temperature and OBANAITO under nitrogen protection. Rotation evaporation removed the superfluous solvent and the residue was dried under the vacuum. After adding the dry dichloromethane of 20 ml to the obtained solid, the mixture was filtered and the non-melted object was removed. The sodium acetate buffer solution (0.1 M, pH 5.5) washed the organic layer once, and it dried and condensed with anhydrous sodium sulfate. The output was moved to ether, and was filtered and it dried under the vacuum. Yield: 9.0 g (90%). NMR : (DMSO) 3.5 (br m, Hs of PEG), 3.24 (3H, s), 4.45 (2H, t), 2.82 (4H, s). [0054]

0.6 The glutamic-acid dipeptide (Glu-Glu) of g is dissolved in the phosphoric acid buffer solution (0.1 M, pH 7.4) of 50 ml, There, methoxy polyethylene-glycol succinimidyl carbonate (what was prepared by methoxypolyethylene glycol succinimidyl carbonate, molecular weight:5000, and a previous process) of 4 g was added. The solution was stirred at the room temperature for 6 hours, and dichloromethane extracted 3 times. The mixed organic phase was dried with anhydrous sodium sulfate. The rotation evaporation under decompression removed the solvent. It filtered, after adding the residue to isopropyl alcohol of 100 ml. The output was dried under the vacuum and ion exchange chromatography refined. Yield: 3.6 g (90%). NMR : (DMSO) 3.5 (br m, Hs in PEG), 3.24 (3H, s), 4.41 (2H, t), and 2.32 (4H, t).

[Work example 2]

[0055]

**Preparation (2) of polyethylene Glico Lod'z glutamic-acid oligopeptide**

Drawing 1 shows the synthesizing method of polyethylene Glico Lod'z glutamic-acid oligopeptide. 30 The polyethylene glycol (molecular weight: 35,000) of g and N,N'-disuccinimidylcarbonate of 2 g were dissolved in acetonitrile of 200 ml, and the dry pyridine of 0.5 ml was added further. The reaction mixture was stirred by a room temperature and OBANAITO under nitrogen gas protection. Rotation evaporation removed the superfluous solvent and the residue was dried under the vacuum. After adding the dry dichloromethane of 50 ml to the obtained solid, the mixture was filtered and the non-melted object was removed. The sodium acetate buffer solution (0.1 M, pH 5.5) washed the organic layer once, and it dried and condensed with anhydrous sodium sulfate. The output was moved to ether, and was filtered and it dried under the vacuum. Yield: 27.2 g (90%). NMR : (DMSO) 3.5 (br m, Hs of PEG), 4.45 (4H, t), and 2.82 (8H, s).

[0056]

0.1 The dipeptide (Glu-Glu) of glutamic acid of g is dissolved in the dimethylformamide of 20 ml, Polyethylene-glycol succinimidyl carbonate (polyethylene glycol succinimidyl carbonate, molecular weight:35,000) of 10 g prepared as mentioned above was added to this solution. The reaction mixture was stirred at the room temperature for 6 hours. The solid deposit was filtered and removed. The remains solution was settled with isopropyl alcohol of 100 ml, and it filtered, and dried under the vacuum. Ion exchange chromatography refined the output. Yield: 4.2 g (40%). NMR : (DMSO) 3.5 (br m, Hs of PEG), 4.41 (4H, t), 2.37 (4H, s), and 2.32 (4H, t).

[Work example 3]

[0057]

**Preparation (3) of the bond products of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide and paclitaxel**

Drawing 2 shows the synthesizing method of the bond products (conjugate) of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide and paclitaxel (paclitaxel). The methoxy polyethylene-glycol jig Lutamin acid dipeptide of 1.25 g prepared in Embodiment 1, 0.7 Dissolve paclitaxel of g, and 4-dimethylaminopyridine (4-dimethylamino pyridine: DMAP) of 0.1 g in the dry dichloromethane of 15 ml, There, the dicyclohexylcarbodiimide (dicyclohexylcarbodiimide:DCC) of 0.2 g was added. The reaction mixture was stirred by a room temperature and OBANAITO under nitrogen gas protection. Rotation evaporation removed the superfluous solvent and it dissolved the residue in 1,4-dioxane of 8 ml. This mixture was filtered, the sediment was removed and that solution was condensed.

30 Isopropyl alcohol of ml was added to the residue, and was filtered, and it dried under the vacuum. Yield: 1.6 g (80%). M. p.:59-62 \*\*.

[Work example 4]

[0058]

preparation (4) of the bond products of polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide and paclitaxel

The polyethylene-glycol jig Lutamin acid dipeptide of 4.0 g prepared in Embodiment 2, paclitaxel of 0.4 g, and 4-dimethylaminopyridine (DMAP) of 0.08 g were dissolved in the dry dichloromethane of 20 ml. Then, the dicyclohexylcarbodiimide (DCC) of 0.15 g was added there. The reaction mixture was stirred by a room temperature and OBANAITO under nitrogen gas protection, and rotation evaporation removed the superfluous solvent. It dissolved in 1,4-dioxane of 10 ml, the residue was filtered, the sediment was removed, and the mother liquor was condensed. The residue was added to isopropyl alcohol of 50 ml, and was filtered. The output was dried under the vacuum. Yield: 3.7 g (85%). M. p.:61-64 \*\*.

[Work example 5]

[0059]

Preparation (5) of the bond products of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid peptide and camptothecin

Drawing 3 shows composition of the bond products of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid peptide and

camptothecin (camptothecin). 0.7 Camptothecin of g and the N-tert-BUCHIOKI sill carboxyl glycine (N-tert-butyoxyloxycarbonylglycine:BOC-gly) of 0.5 g were dissolved in the dry dichloromethane of 10 ml. The dicyclohexylcarbodiimide (DCC) of 0.62 g and 4-dimethylaminopyridine (DMAP) of 0.36 g were added. The reaction mixture was stirred by a room temperature and OBANAITO. The solid formed during the reaction was filtered and removed and the mother liquor was condensed under decompression. The mixture was added to the ether of 50 ml, and it filtered. The sediments were collected and it dried under the vacuum.

[0060]

0.5 Camptothecin N-tert-BUCHIOKISHIRU carboxyl glycine ester (what was obtained by the previous process) of g was dissolved in chloroform of 10 ml. Next, the trifluoroacetic acid of 10 ml was added. The reaction mixture is stirred at a room temperature for 5 hours, and it condenses under decompression.

Then, diethylether of 50 ml was added.

Filtration recovered the sediment and it dried under the vacuum.

[0061]

The methoxy polyethylene-glycol glutamic-acid dipeptide of 2.5 g prepared in Embodiment 1, and substitution camptothecin (what was obtained by the previous process) of 0.6 g and 4-dimethylaminopyridine (DMAP) of 0.2 g were dissolved in the dry dichloromethane of 30 ml. There, the JISHIKURO carbodiimide (DCC) of 0.4 g was added. The reaction mixture was stirred by a room temperature and OBANAITO under nitrogen gas protection. Rotation evaporation removed the superfluous solvent and the residue was dissolved in 1,4-dioxane of 15 ml. After filtering and removing a sediment, the mother liquor was condensed. The residue was added to isopropyl alcohol of 50 ml, and was filtered. The obtained solid was dried under the vacuum. Ion exchange chromatography can refine output. Yield: 2.5 g (80%). M. p.:60-63 \*\*.

[Work example 6]

[0062]

Preparation (6) of the bond products of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide and ball fern

FAGIN

Drawing 2 shows composition of the bond products of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide and ball fern FAGIN (cinobufagin). The methoxy polyethylene-glycol glutamic-acid dipeptide of 1.0 g prepared in Embodiment 1 was dissolved in the dichloromethane of 10 ml. There, 4-dimethylaminopyridine (DMAP) of ball fern FAGIN of 60 mg and 32 mg and the dicyclohexylcarbodiimide (DCC) of 40 mg were added. The reaction mixture was stirred by a room temperature and OBANAITO under nitrogen gas protection. Rotation evaporation removed the superfluous solvent. It dissolved in 1,4-dioxane of 20 ml, the residue was filtered, and the mother liquor was condensed. The residue was added to isopropyl alcohol of 100 ml, and it filtered. The acquired solid output was dried

under the vacuum. Yield: 0.8 g (60%). M. p.:58-80 \*\*.

[Work example 7]

[0063]

Preparation (7) of the bond products of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide and glycyrrhetic acid

Drawing 3 shows composition of the bond products of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide and glycyrrhetic acid (glycyrrhetic acid). The methoxy polyethylene-glycol glutamic-acid dipeptide of 1.0 g prepared in Embodiment 1 was dissolved in the dichloromethane of 10 ml. There, the thionyl chloride of 0.2 ml was dropped and added. Reaction mixed liquor was stirred for 2 hours. The distillation under decompression removed the solvent and the low-boiling-point impurity. 10 It added, stirring the glycyrrhetic acid solution of 70 mg which dissolved in the dichloromethane of ml. Then, 4-dimethylaminopyridine (DMAP) of 60 mg was added. The reaction mixture was stirred at the room temperature under nitrogen gas protection for 12 hours. The solvent was condensed under the vacuum. The residue was added to 20 ml of isopropyl alcohol, and it filtered. The sediments were collected, inhalation-of-air desiccation was washed and carried out by diethylether, and it dried under the vacuum further. Ion exchange chromatography can refine the output. Yield: 0.8 g (60%). M. p.:60-62 \*\*.

[Work example 8]

[0064]

Preparation (8) of bond products of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide and scopoletin

Drawing 2 shows composition of bond products of methoxy polyethylene-glycols glutamic-acid oligopeptide and scopoletin (scopoletin). Methoxy polyethylene-glycol glutamic-acid dipeptide of 5 g prepared in Embodiment 1 was dissolved in 50 ml of dichloromethane. Then, scopoletin of 0.70 g, 4-dimethylaminopyridine (DMAP) of 0.1 g, and dicyclohexylcarbodiimide (DCC) of 0.82 g were added. The reaction mixture was stirred at a room temperature under nitrogen gas protection for 12 hours. The solvent was condensed under a vacuum. The residue was added to 1,4-dioxane of 20 ml, and was filtered. The sediments were collected, and inhalation-of-air desiccation was washed and carried out with ether. It was made to evaporate under decompression of the mother liquor. 100 Isopropyl alcohol of ml was added to the residue. Sediments were collected, and it washed by diethylether and dried under a vacuum. The sediment was concentrated and it dried under a vacuum. Yield: 4 g (80%). M. p.:58-61 \*\*.

[Work example 9]

[0065]

This embodiment explains the preparation processes of a typical parenteral constituent. This constituent contains the bond products of this invention.

Ingredient: Bond products prepared in Embodiment 3 ... 2 g

0.9% salt solution ... Up to 100 ml

The bond products prepared in Embodiment 3 were dissolved in 0.9% of salt solution, and the solution for intravenous injections of 100 ml was obtained. Aseptic packaging of this was filtered and carried out by the 0.2 mum film.

[Brief Description of the Drawings]

[0066]

[Drawing 1] Drawing 1 shows composition of a PEG-glutamic-acid oligopeptide derivative.

[Drawing 2] Drawing 2 shows composition of the bond products by the ester bond of a PEG-glutamic-acid oligopeptide derivative and drugs.

[Drawing 3] Drawing 3 shows composition of the bond products of other PEG-glutamic-acid oligopeptide derivatives and drugs.

---

[Translation done.]

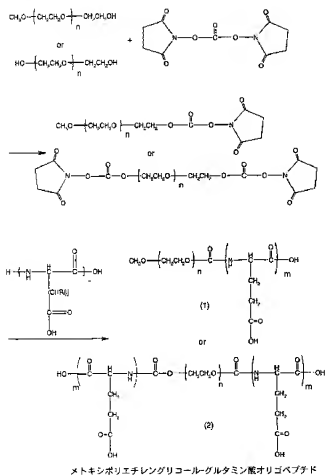
\* NOTICES \*

**JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.**

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

## DRAWINGS

[Drawing 1]



[Drawing 2]







JPO and INET are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. ~~et cetera~~ shows the word which can not be translated.

3. In the drawings, any words are not translated.

## CORRECTION OR AMENDMENT

[Kind of official gazette/Printing of amendment by regulation of Patent Law Article 17 of 2

[A section Type] The 2nd Type of the part III rule

Publication date | Heisei 17 (2005) December 22 (2005.12.22)

[An official announcement number] The 2005-519122 (P2005-519122-A)

(An announcement dated Haisei 172005 June 30 2005 6 30)

(An annual volume number) Public presentation / registration number 2005-025

**Audition number!** The audition for parent 2003-573050 (parent 2003-573050) is an immediate, informal audition. I would appreciate you if the audition is on 10/27/03.

The Third Edition of *International Patent Classification*

4628 47/48

DATE 9/02

6672 9/08

A61K 9/10

A6:K 9/12

361K 9714

A61K 9/20

AGLK 9/48

C08G 81/00



A61K 47/48

A61K 9/02

A6LK 9/08

A61K 9/10



X is a crosslinking group,

TA is a drugs molecule.

Bond products which are the bond products according to claim 1, and are water-soluble polymer chosen from a group which said water-soluble polymer becomes from a polyethylene glycol, a polypropylene glycol, a polyacrylic morpholines, and these copolymers.

Bond products whose molecular weights of said polyethylene exceed it is the bond products according to claim 3, and are 300-60,000 [claim 4]

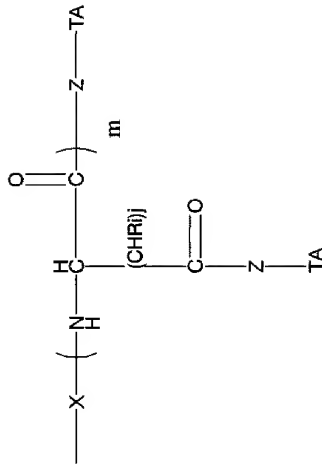
[Claim 5]  
Bond products in which it is the bond products according to claim 1, and said crosslinking group X is  $(\text{CH}_3)_3\text{CO}$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{NCO}$ , or  $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$  and whose 1 is an integer of 0-10.

**Claim 6** Bond products by which a free hydroxy group of said hydrophilic polymer is replaced with an alkoxy group, a cycloalkoxy group, or an AROKISHIRU group of  $C_{1-10}$  and in which are the bond products according to claim 1, and it deals.

Bond products in which are the bond products according to claim 1, and a free hydroxyl group of said hydrophilic polymer is replaced by thing of a following formula, and feels

Chemical formula 2

[https://www4.lodj.inl.go.kr/cgi-bin/trm\\_web.cgi?calle?trw\\_u=http%3A%2F%2F...&2pgs2Pgswd4\\_lodj\\_inl.go.kr%2Ftokulink%20hitenthen lod&trw\\_method=GET](https://www4.lodj.inl.go.kr/cgi-bin/trm_web.cgi?calle?trw_u=http%3A%2F%2F...&2pgs2Pgswd4_lodj_inl.go.kr%2Ftokulink%20hitenthen lod&trw_method=GET) (3 of 5)10/19/2010 11:04:41 AM



inside of the above-mentioned formula:

x, m, l, B, Z, and TA are the same as a definition in Claim 1.

### Claim 81

Bond products which delivery which it is the bond products according to claim 1, and said hydrophilic polymer held a target molecule, and set a target of said bond products does.

[Claim 9]

Bond products in which it is the bond products according to claim 8, and said target molecule is an antibody.

**Claim 10**

Are the bond products according to claim 1, and said drugs partial TA Amino acid, protein, an enzyme, a nucleoside, sugars, organic acid, glycoside, flavonoid, quinone, terpenoid, and phenylpropane -- (d) -- bond products which are any one chosen from a group which consists of phenol, steroid, sialic glycosides, and alkaloid.

### Claim 11

Bond products in which it is the bond products according to claim 10, and said drugs partial TA is an active principle of natural medicine.

Claim 12

Bond products in which it is the bond products according to claim 11, and said natural active principle is ball fern FAGIN, glyceric acid, or seconaloin.

Claim 13

Exam 157

Bond products in which it is the bond products according to claim 10, and said drugs partial TA is an antitumor agent.

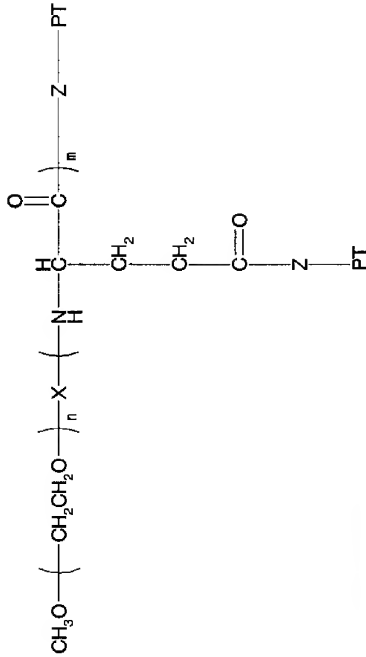
**CLAIM 14**

Bond products which are the bond products according to claim 13, and are the anti-tumor agents chosen from a group which said anti-tumor agent becomes from paclitaxel, camptothecin, hydroxyl camptothecin, epirubicin, and these derivatives.

15

Rigid products which are bond products, are bond products of methoxy polystyrene-oligoethers, ethanamide-acid of copolymer and a drug molecule, and are expressed with a following formula:

[Chemical formula] 31



inside of the above-mentioned formula -

it is an integer of 10-E20A.

$m$  is an integer of 2-12.

X is chosen from a group which consists of  $(\text{CH}_3)_2(\text{CH})_2\text{OCO}$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{NCO}$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{NCO}$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{NCO}$ , and  $(\text{CH}_3)_2\text{NCO}$ , and i is a crosslinking group which is an integer of 0-10.

Zur Kenntnis der *Chlorophyta* von Japan. 1. Teil

z is a crosslinking group chosen from O and NH, DTG are grafted chains on fibers around which consists of covalent crosslinking, full form EACIN dicarboxylic acid, crosslinkers, and these dicarboxylic

[Chénia 16]

A constituent which is a constituent and contains the board member according to one of claims 1 to 5 and is characterized in that it is formed by a material or materials.

Claim 17]

A constituent which is the constituent according to claim 16 and contains other remedial active principles further

Claim 18]

A constituent by which it is formed in a form of a tablet, suppositories, a pill, software and a hard gelatine capsule agent, powder material, liquids and solutions, suspension, or aerosol and in which is the constituent according to claim 16, and its details.

[Claim 19]

Use of the bond products according to any one of claims 1 to 15 in medicine manufacture.

[Translation done.]

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>

F 1

テーマコード(参考)

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 47/48

4 C 0 7 6

A 6 1 K 9/02

A 6 1 K 9/02

4 J 0 3 1

A 6 1 K 9/08

A 6 1 K 9/08

A 6 1 K 9/10

A 6 1 K 9/10

A 6 1 K 9/12

A 6 1 K 9/12

審査請求 有 予備審査請求 有 (全20頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-573050(P2003-573050)

(86) (22) 出願日 平成15年3月5日 (2003.3.5)

(85) 翻訳文提出日 平成16年9月30日 (2004.9.30)

(86) 国際出願番号 PCT/CN2003/000164

(87) 国際公開番号 WO2003/074586

(87) 国際公開日 平成15年9月12日 (2003.9.12)

(31) 優先権主張番号 02105691.4

(32) 優先日 平成14年3月5日 (2002.3.5)

(33) 優先権主張国 中国 (CN)

(71) 出願人 504336320

北京競▲創▼科技有限公司

中華人民共和国北京市海淀区上地信息路2

号国▲際▼科技▲創▼▲業▼▲園▼C▲棟

▼四▲層▼

(74) 代理人 110000040

特許業務法人池内・佐藤アンドパートナーズ

(72) 発明者 ▲稻▼ 世山

中華人民共和国北京市清▲華▼大学▲華▼

▲業▼大厦1209▲房▼間

(72) 発明者 朱 ▲德▼▲權▼

中華人民共和国北京市清▲華▼大学▲華▼

▲業▼大厦2611▲房▼間

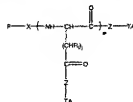
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドと薬剤分子との結合生成物、医薬組成物およびその薬学上の使用

(57) 【要約】

本発明は、親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドと薬剤分子との結合生成物であって、下記式で表される結合生成物に関する。

【化10】



上記式中、Pは、水溶性ポリマーであり、mは、2~12の整数であり、jは、1~6の整数であり、R<sub>1</sub>は、H、C<sub>1</sub>...のアルキル基、置換アリール基、アルアルキル基、ヘテロアルキル基および置換アルキル基からなる群から選択される基であり、XおよびZは、架橋基であり、TAは、薬剤分子である。前記結合生成物は、毒性が低く、一つ以上の薬剤分子を保持することができ、溶解度を向上させ

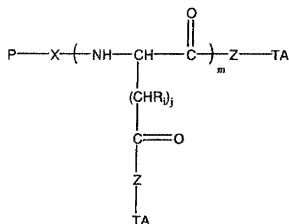


## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

結合生成物であって、親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドと薬剤分子との結合生成物であり、下記式で表される結合生成物。

【化 1】



10

上記式中：

20

Pは、水溶性ポリマーであり、

mは、2～12の整数であり、

jは、1～6の整数であり、

R<sub>i</sub>は、H、C<sub>1-6</sub>のアルキル基、置換アリール基、アルアルキル基、ヘテロアルキル基および置換アルキル基からなる群から選択される基であり、

Xは、架橋基であり、

Zは、OおよびNHから選択される架橋基であり、

TAは、薬剤分子である。

## 【請求項 2】

請求項 1 に記載の結合生成物であって、前記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコー 30  
ル、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリアクリルモルホリンおよび  
これらの共重合体からなる群から選択される水溶性ポリマーである結合生成物。

## 【請求項 3】

請求項 2 に記載の結合生成物であって、前記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコー 40  
ルである結合生成物。

## 【請求項 4】

請求項 3 に記載の結合生成物であって、前記ポリエチレングリコールの分子量が、300  
～60,000である結合生成物。

## 【請求項 5】

請求項 1 に記載の結合生成物であって、前記架橋基 X が、(CH<sub>2</sub>)<sub>i</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>i</sub>OCO、(CH<sub>2</sub>)<sub>i</sub>NH 40  
CO又は(CH<sub>2</sub>)<sub>i</sub>COであって、iが、0～10の整数である結合生成物。

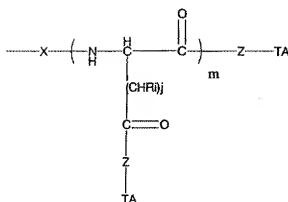
## 【請求項 6】

請求項 1 に記載の結合生成物であって、前記親水性ポリマーの遊離ヒドロキシル基が、  
C<sub>1-6</sub>のアルコキシル基、シクロアルコキシル基又はアロキシル基により置換されうる結  
合生成物。

## 【請求項 7】

請求項 1 に記載の結合生成物であって、前記親水性ポリマーの遊離ヒドロキシル基が、  
下記式のものにより置換されうる結合組成物。

【化 2】



10

上記式中：

X、m、j、R<sub>1</sub>、ZおよびTAは、請求項1における定義と同じである。

【請求項8】

請求項1に記載の結合生成物であって、前記親水性ポリマーが標的分子を保持し、前記結合生成物の標的を定めたデリバリーがなされ得る結合生成物。

【請求項9】

請求項8に記載の結合生成物であって、前記標的分子が、抗体である結合生成物。

20

【請求項10】

請求項1に記載の結合生成物であって、前記薬剤部分TAが、アミノ酸、タンパク質、酵素、ヌクレオシド、糖類、有機酸、グルコシド、フラボノイド、キノン、テルペノイド、フェニルプロパノイドフェノール、ステロイドおよびこれらのグルコシドならびにアルカロイドからなる群から選択されるいずれか1つである結合生成物。

【請求項11】

請求項10に記載の結合生成物であって、前記薬剤部分TAが、天然医薬の有効成分である結合組成物。

【請求項12】

請求項11に記載の結合生成物であって、前記天然有効成分が、シノプファギン、グリシレン酸又はスコボレチンである結合生成物。

30

【請求項13】

請求項10に記載の結合生成物であって、前記薬剤部分TAが、抗腫瘍剤である結合生成物。

【請求項14】

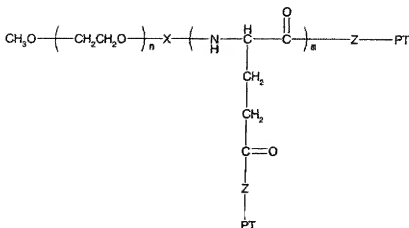
請求項13に記載の結合生成物であって、前記抗腫瘍剤が、バクリタキセル、カンプトテシン、ヒドロキシルカンプトテシン、エトポシドおよびこれらの誘導体からなる群から選択される抗腫瘍剤である結合生成物。

【請求項15】

結合生成物であって、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドと薬剤分子との結合生成物であり、下記式で表される結合生成物。

40

【化 3】



10

上記式中：

nは、10～1200の整数であり、

mは、2～12の整数であり、

Xは、 $(\text{CH}_2)_i$ 、 $(\text{CH}_2)_i\text{OCO}$ 、 $(\text{CH}_2)_i\text{NHC0}$ および $(\text{CH}_2)_i\text{CO}$ からなる群から選択され、iが、0～10の整数である架橋基であり、

Zは、OおよびNHから選択される架橋基であり、

20

PTは、バクリタキセル、カンプトテシン、シノブファギン、グリシレチン酸、スコボレチンおよびこれらの誘導体からなる群から選択される薬剤である。

【請求項 1 6】

組成物であって、請求項 1 から 1 5 のいずれかに記載の結合生成物、および、薬学的に許容されるキャリア又は賦形剤を含む組成物。

【請求項 1 7】

請求項 1 6 に記載の組成物であって、さらに、他の治療上の有効成分を含む組成物。

【請求項 1 8】

請求項 1 6 に記載の組成物であって、タブレット、坐剤、ビル、ソフトおよびハードゼラチンカプセル剤、粉剤、液剤、懸濁剤、又は、エロゾル剤の形態に形成されうる組成物。

30

【請求項 1 9】

製薬における、請求項 1 から 1 5 のいずれかに記載の結合生成物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチド(hydrophilic polymer-mullicarboxyl oligopeptide)と薬剤分子との新規結合生成物、前記結合生成物を含む医薬組成物、および、前記結合生成物の薬学上の使用に関する。

【背景技術】

40

【0002】

天然医薬の有効成分の中で、タンパク質、ポリペプチド、テルペノイド、ステロイド、アルカロイド、フラボノイド、アントラキノン、および、フェニルプロパノイドフェノールは、すべて、生物活性に関して、様々な効果特性を有する。それゆえ、これらは、医薬において広く使用されている。これらのグルコシド、ヌクレオシドおよびポリペプチド誘導体もまた、かなりの量の使用例が示されている。天然有効成分として、これらは、生分解速度が速く、残留物が有るか無しかの程度であり、毒性が低く、そして、副作用が有るか無しかの程度であるという利点がある。しかしながら、これらは、依然として、例えば、バイオアベイラビリティが低く、生理学的半減期が短く、水溶性に乏しく、免疫原性を有する等の不便な点がある。

50

【 0 0 0 3 】

この問題を解決するために、PEGの誘導体が、タンパク質、ペプチド又は他の治療剤との結合に広く使用され、これらの生理学的半減期の延長や、これらの免疫原性および毒性の低減が試みられている。臨床的には、PEGおよびその誘導体は、市販製剤の製造のためのキャリア(carrier)として広く使用されている。PEGを薬剤分子に結合させる試みは、この10年で著しい進歩を遂げ、多くの公式認可薬剤に適用されている。例えば、PEGと $\alpha$ -インターフェロンとの結合生成物(conjugate)であるPEG-intronR(商品名)は、 $\alpha$ -インターフェロンの天然型と比較して、循環半減期がより長くなり、より良い治療効果が認められた。PEGとバクリタキセルとの結合生成物も、同様に、毒性を低減し、生物活性を延長することが示されている。これらの結合生成物の代謝プロセスは周知であり、PEGが安全な薬剤修飾物質(drug modifier)であることが示されている。

【 0 0 0 4 】

PEGを薬剤に結合する場合、PEG化(PEGylation)と呼ばれるプロセスがよく用いられる。この方法では、PEGの1つ又は2つの末端基が化学的に活性化され、薬剤の少なくとも1つの官能基と反応し安定な結合を形成する適切な官能基を有することとなる。この安定な結合は、インビボの適切な条件下で分解により解消され、これにより有効成分が放出される。

【 0 0 0 5 】

PEGは様々な薬剤に結合できることが報告されている。バクリタキセルと結合したPEG誘導体のプロドラッグは、US特許No.5824701および5840900ならびに中国特許No.CN1283643に開示されている(特許文献1~3)。これらの特許では、PEGの2つの末端基のそれぞれが、バクリタキセル分子と結合している。薬剤分子の積載量を増やすため、US特許No.6153655は、末端が分枝したPEGの構造であって、PEGの2つの末端でアミノ架橋により2つの官能基が形成される構造を教示する(特許文献4)。しかしながら、非生物学的に分枝した低分子の取り込みは、同時に、薬剤特性を不明瞭なものとする。US特許No.5977163および6262107ならびに中国特許No.CN1164533は、ポリグルタミン酸をキャリアとしたバクリタキセルのプロドラッグであって、ポリグルタミン酸の骨格に沿ってグルタミン酸の活性カルボキシル基にバクリタキセルがランダムに結合したプロドラッグを開示する(特許文献5~7)。ポリグルタミン酸の広範な多分散性および特性の不確実性が、これらの発明の適用を制限している。

【特許文献1】米国特許第5824701号明細書

【特許文献2】米国特許第5840900号明細書

【特許文献3】中国特許第1283643号明細書

【特許文献4】米国特許第6153655号明細書

【特許文献5】米国特許第5977163号明細書

【特許文献6】米国特許第6262107号明細書

【特許文献7】中国特許第1164533号明細書

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 6 】

したがって、本発明は、親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチド(hydrophilic polymer-multicarboxyl oligopeptide)と薬剤分子との結合生成物を提供することを目的とする。

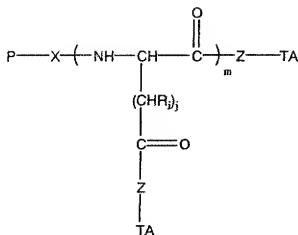
【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 7 】

本発明は、下記式で表される親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドと薬剤分子との結合生成物の提供する。

【 0 0 0 8 】

【化 4】



10

【 0 0 0 9 】

上記式中：

Pは、水溶性ポリマーであり、

mは、2～12の整数であり、

jは、1～6の整数であり、

20

R<sub>j</sub>は、H、C<sub>1-11</sub>のアルキル基、置換アリール基、アルアルキル基、ヘテロアルキル基および置換アルキル基からなる群から選択される基であり、

Xは、架橋基であり、

Zは、OおよびNHから選択される架橋基であり、

TAは、薬剤分子である。

【 0 0 1 0 】

本発明は、その他の態様として、上記結合生成物を有効成分として含む医薬組成物の提供  
 提供する。

【 0 0 1 1 】

本発明は、さらにその他の態様として、医薬組成物の製造における上記結合生成物の使  
 用を提供する。

【発明の効果】

【 0 0 1 2 】

本発明の結合生成物は、薬剤の吸収を向上し、治療持続時間を延長し、治療効果を増強  
 し、投薬量を減少し、毒性その他の副作用を回避することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 1 3 】

以下に図を参照してより詳細に本発明の説明をする。

【 0 0 1 4 】

本発明の結合生成物に用いられる親水性ポリマーは、例えば、ポリエチレングリコール 40  
 、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリアクリルモルホリン、又は、  
 これらの共重合体である。これらの中でも、ポリエチレングリコールおよびその共重合体  
 が好ましい。アミノ酸の酸性オリゴペプチド、とりわけ、グルタミン酸のオリゴペプチド  
 は、例えば、親水性ポリマー等の遊離端ヒドロキシル基を修飾することにより、前記親ポ  
 リマーに結合される。この結合が、前記ポリマーと薬剤分子との結合部位（linking site  
 s）を提供する。このようにして、天然医薬有効成分であるタンパク質、ペプチド又はそ  
 の他の遊離アミノ基およびヒドロキシル基を前記ポリマーに結合できる。とりわけ、低分  
 子天然医薬の有効成分の場合、適切な薬剤濃度と持続放出を確保するため、このような方  
 法により一つ以上の薬剤分子を親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドに結  
 合できる。

50

【0015】

本発明の結合生成物において、グルタミン酸オリゴペプチドのマルチカルボキシル基は多くの結合部位を提供する。それにより、前記結合生成物は、通常の直鎖PEGキャリヤよりも高い薬剤積載量(drug load)を示す。グルタミン酸オリゴペプチドとポリグルタミン酸との違いは、グルタミン酸オリゴペプチドは、オリゴペプチド鎖あたり一定数の活性カルボキシル基を有することである。それゆえ、例えば、バクリタキセル等の薬剤分子と結合させる場合、薬剤積載量を確証し、繰り返すことができる。同時に、例えば、バクリタキセル等の薬剤は非親水性であるため、親水性ポリマー-グルタミン酸オリゴペプチド-薬剤分子の結合生成物は、水溶液中で多くの凝集分子からなる分子ミセル/ミクロスフェア構造を形成できる。この構造により、前記親水性ポリマーの好ましい特性、例えば、親水性、柔軟性および抗マクロファージ食作用性等を維持できる。その一方で、前記構造は、薬剤分子の徐放性、および、薬剤分子とりわけ天然医薬のインビボにおける貯留時間の延長を付与する。

【0016】

本発明の利点の一つは、PEG又はその誘導体のような親水性ポリマーの特性である、例えば、水溶性、非免疫原性および無毒性等に加え、オリゴペプチドの基が薬剤分子の結合部位を数多く提供する場合、有効血中濃度や段階的な薬剤の放出が確保できることである。

【0017】

次に、親水性ポリマーとマルチカルボキシルオリゴペプチドとの間の結合を、PEG誘導体を例にあげて説明する。

【0018】

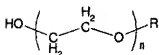
PEG誘導体の構造は、重合体の分枝鎖の部分および末端の官能基の部分を含む。これらは、それぞれ、下記のとおり表すことができる。

【0019】

ポリエチレングリコール(PEGs)は、下記一般式で表される。

【0020】

【化5】



30

【0021】

上記式中：

Rは、H又はC<sub>1-11</sub>のアルキル基であり、

nは、重合度を表す整数である。

【0022】

低級アルキル基として、Rは、任意の炭素原子数が1~6の低級アルキル基であってよく、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、n-ペンチル基およびn-ヘキシル基等があげられる。シクロアルキル基としては、Rは、好ましくは、炭素原子数が3~7のシクロアルキル基であって、例えば、シクロプロピル基、シクロブチル基およびシクロヘキシル基があげられる。これらの中でも、シクロヘキシル基がより好ましい。代表的な化合物は、メトキシポリエチレングリコール(mPEG)である。他のポリエチレングリコールの類似化合物および誘導体、例えば、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコールおよびポリアクリルモルホリン等も、同様に、本発明に使用できる。

【0023】

PEGsに関しては、通常、分子量で測定される。前記結合生成物を形成するPEGの分子量としては、300~60000ダルトンの範囲、nでいうと約6~約1300の範囲であることが好まし

50

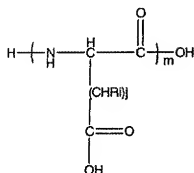
い。より好ましくは、 $n$ は、28、112および450であり、それぞれ、分子重1325、5000および20000に相当する。出発材料のPEGsは、通常、自己繰返し単位 $n$ よりはむしろその分子量で定義されるが、潜在的に不均一であるため、PEGsは、 $n$ で表される自己繰返し単位で特徴付けられるかわりに、一般的に、重畳平均分子量により特徴付けされる。異なる分子量の出発材料PEG化合物は、当該技術分野の従来公知の方法を用いて容易に合成でき、又は、市販のものを使用できる。

【 0 0 2 4 】

前記マルチカルボキシルオリゴペプチドは、下記一般式により表される。

【 0 0 2 5 】

【 化 6 】



10

20

【 0 0 2 6 】

上記式中：

$m$ は、重合度を表す2~12の整数であり、

$j$ は、1~6の整数であり、

$R_1$ は、 $\text{H}$ 、 $\text{C}_{1-12}$ のアルキル基、置換アリール基、アルアルキル基、ヘテロアルキル基および置換アルキル基からなる群から選択される基である。

【 0 0 2 7 】

低級アルキル基として、 $R_1$ は、任意の炭素原子数が1~12の低級アルキル基であってよく、例えば、メチル基、エチル基、 $n$ -プロピル基、イソプロピル基、 $n$ -ブチル基、イソブチル基、 $n$ -ペンチル基および $n$ -ヘキシル基、ならびに、有り得るシクロアルキル基等があげられる。アルアルキル基としては、 $R_1$ は、好ましくは、ベンジル基またはフェニルエチル基である。好ましい置換アリール基は、ベンジル基である。

【 0 0 2 8 】

オリゴペプチドの合成は、一般的な方法により行うことができる。保護アミノ酸を用いて、アミノ酸ポリマーはデヒドラント(dehydrant)の影響下で高収率で製造できる。当然ながら、本発明のオリゴペプチドはホモポリペプチドであるため、構造的な配列の問題はない。それゆえ、より簡便な方法が使用できる。例えば、混合酸無水物法(mixed acid anhydrides method)、活性エステル法(active ester method)、および、 $N$ -カルボキシ- $\alpha$ -アミノ酸無水物(NCA)法( $N$ -carboxy- $\alpha$ -amino acid anhydrides method)等があげられる。

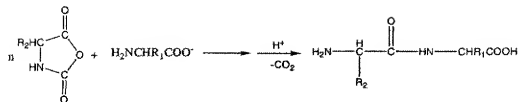
40

【 0 0 2 9 】

$N$ -カルボキシ- $\alpha$ -アミノ酸無水物法を例として、前記合成を下記に示す。

【 0 0 3 0 】

【化 7】



【0031】

前記反応は、速い反応速度と短い合成サイクルという利点がある。前記反応が完了すると、遊離アミノ基を有する得られたペプチドは、分離することなくそのまま次のオリゴペプチド合成工程に用いることができる。側鎖は、一般的に、保護の必要はより少ない。NC Aの側鎖は、通常、側鎖の保護が必要である。アミノ基成分としては、リジンおよびシステインの側鎖のみが保護する必要がある。

【0032】

マルチカルボキシルオリゴペプチド化合物は、当該技術分野の従来公知の方法を用いて容易に合成でき、又は、市販のものを使用できる。

【0033】

本発明の前記親水性ポリマー-グルタミン酸オリゴペプチド部分は、当該技術分野の従来公知の方法を用いて、親水性ポリマーとグルタミン酸とから合成される。

【0034】

実際に適用する場合、親水性ポリマーの末端基は活性化され、オリゴペプチドのアミノ基又はカルボキシル基と反応して結合生成物を形成できるようにされる必要がある。意図する使用に関して、末端官能基は、以下の方法により修飾することができる。

a: アミノ化

親水性ポリマーがアミノ化されると、ヒドロキシル基が、反応性により優れるアミノ基になる。前記ポリマーがカルボキシル酸基を含む分子と反応して結合生成物を産出する場合に特に重要である。

b: カルボキシル化

親水性ポリマーのカルボキシル化は、その反応性を向上し、アミノ基又はカルボキシル基を含む分子に結合することを可能とする。

c: 塩化アシル、ヒドラジン、マレイミド、二硫化ピリジン等による修飾といった他の方法も、すべて同様に、適宜採用できる。

【0035】

上記リストの方法はすべて親水性ポリマーおよびオリゴペプチドの官能基間に化学結合を形成することとなる。それゆえ、前記2つの化合物の利点を活用できる。

【0036】

現在使用される全ての薬剤、特に、天然医薬は、例えば、アミノ基、カルボキシル基およびヒドロキシル基等の官能基を含む。インビボでは、これらの官能基は、単糖類、多糖類、ヌクレオシド、ポリヌクレオシドおよびホスホリル等と結合でき、インビボで薬学的に活性のある構造を形成する。

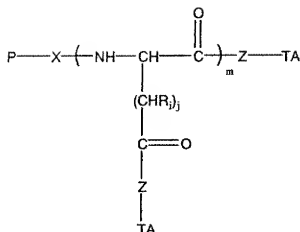
【0037】

したがって、水溶性ポリマー-マルチオリゴペプチドは、同じように、薬剤分子に結合でき、生物有機分子に取って代わり、生理学的半減期の短さや治療持続時間の短さという欠点を克服する。本発明の親水性ポリマー-マルチカルボキシルオリゴペプチドは、下記式で表される。

【0038】



【化 8】



10

【 0 0 3 9 】

上記式中：

Pは、水溶性ポリマーであり、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリアクリルモルホリン又はこれらの共重合体であってもよく、好ましくは、ポリエチレングリコールおよびその共重合体であり、

20

mは、2～12の整数であり、

jは、1～6の整数であり、

R<sub>i</sub>は、H、C<sub>1-12</sub>のアルキル基、置換アリール基、アルアルキル基、ヘテロアルキル基および置換アルキル基からなる群から選択される基であり、

Xは、架橋基であり、好ましくは、(CH<sub>2</sub>)<sub>1</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCO、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHCOおよび(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>COであって、iは、1～10の整数であり、

Zは、OおよびNHから選択される架橋基であり、

TAは、薬剤分子である。

【 0 0 4 0 】

前記親水性ポリマーが遊離ヒドロキシル基を含む場合、前記ヒドロキシル基は、C<sub>1-12</sub>のアルコキシ基、シクロアルコキシ基又はアロキシ基(aroxy)基でブロックすることができる。好ましくは、メトキシ基、エトキシ基、イソプロポキシ基、シクロプロポキシ基、シクロブトキシ基、シクロヘキソキシ基又はベンゾキシ基である。

30

【 0 0 4 1 】

加えて、例えば、抗体等の標的分子を前記親水性ポリマーに結合でき、本発明の結合生成物を標的を定めてデリバリーすることができる。

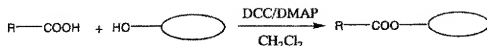
【 0 0 4 2 】

親水性ポリマーは、エステル化反応により薬剤分子に結合できる。このプロセスは、簡単には、下記式により表すことができる。

【 0 0 4 3 】

40

【化 9】



【 0 0 4 4 】

エステル基は、インビボで生物分解により解消され、有効成分が放出される。

【 0 0 4 5 】

本発明において、結合生成物の薬剤部分は、任意の適当な薬剤分子でよく、例えば、アミノ酸、タンパク質、酵素、ヌクレオシド、糖類、有機酸、グリコシド、フラボノイド、

50

キノン、テルペノイド、フェニルプロパノイドフェノール、ステロイドおよびこれらのグリコシド、アルカロイド等があげられる。

【 0 0 4 6 】

好ましくは、本発明の結合生成物に含まれる薬剤分子は、天然植物から分離される有効成分であって、例えば、シノブファギン、グリシレチン酸およびスコボレチンである。より好ましくは、前記薬剤分子は、腫瘍治療に用いられる天然医薬成分であって、例えば、バクリタキセル、カンプトテシン、ヒドロキシカンプトテシン、エトポシドおよびこれらの誘導体である。

【 0 0 4 7 】

本発明の結合生成物は、精製化合物又は薬学的に許容される組成物の形態で、任意の許容される投与経路により又は同じよう使用される試薬に含ませて、投与される。このようにして、前記結合生成物は、経口、経鼻、非経口、局所、経皮又は直腸経路により、固形、半固形、フリーズドライパウダー又は液体の投薬形態、例えば、タブレット、坐剤、ビル、ソフトおよびハードゼラチンカプセル剤、粉剤、液剤、懸濁剤およびエロゾル剤等の投薬形態で、投与できる。正確な投薬量および簡便な投与に適した単位投薬形態 (unit dosage forms) が好ましい。前記組成物は、従来の薬学的キャリア又は賦形剤、および、(1つ以上の) 有効成分として前記結合生成物を含む。前記組成物は、さらに、他の薬剤、キャリアおよびアジュバントを含んでもよい。

【 0 0 4 8 】

一般的に、所望の投与方法に依存するが、薬学的に許容される組成物は、約1~99%の本発明の結合生成物、および、99~1%の薬学的に適した賦形剤を含む。組成物に含まれる結合生成物は、好ましくは、5~75%であり、残りは、薬学的に適した賦形剤である。

【 0 0 4 9 】

例えば、液剤や懸濁剤といった液体の形態で投与される前記組成物は、本発明の結合生成物 (約0.5~20%) および任意の薬学的アジュバントをキャリアに溶解又は分散させることで調製できる。液剤又は懸濁剤を形成するためのキャリアには、例えば、水、食塩水、グルコース水、グリセロール、エタノール等が含まれる。

【 0 0 5 0 】

必要に応じて、本発明の組成物は、さらに、例えば、湿潤剤、乳化剤、pHバッファーおよび抗酸化剤等を含んでもよい。具体例としては、クエン酸、乳ビタミンモノラウレート (sorbital monolaurate)、トリエタノールアミンオレアート (oleate)、ブチル化ヒドロキシトルエン等があげられる。

【 0 0 5 1 】

このような投薬形態の実際の調製方法は、当該技術分野の技術者に公知又は自明であって、例えば、Ramington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>th</sup> edition, (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990)を参照できる。ともかく、本発明の技術によれば、使用される組成物は、本発明に係る結合生成物を有効量含み、対応する疾病を治療できる。

【 0 0 5 2 】

(実施例)

本発明の結合生成物およびその調製方法について下記実施例を参照してさらに説明する。但し、これらの実施例はいかなる場合であっても本発明の範囲を制限するものではない。本発明の範囲は、請求の範囲にのみ制限される。

【実施例1】

【 0 0 5 3 】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドの調製 (1)

図1は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドの合成方法を示す。10 gのメトキシポリエチレングリコール (methoxypolyethylene glycol, 分子量: 5000) と2 gのN,N'-ジスクシニミジルカーボネート (N, N'-disuccinimidyl carbonate) とを100 mlのアセトニトリルに溶解し、さらに、0.5 mlの乾燥ピリジンを加えた。反応混

合物を窒素保護下、室温、オーバナイトで撹拌した。過剰の溶媒を回転蒸発により除去し、その残留物を真空中で乾燥した。得られた固形物に20 mlの乾燥ジクロロメタンを加えた後、その混合物を濾過して未溶解物を除去した。その有機層を酢酸ナトリウムバッファ溶液(0.1 M, pH 5.5)で一度洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。その生成物をエーテルに移し、濾過し、真空中で乾燥した。収率: 9.0 g (90%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, Hs of PEG), 3.24(3H, s), 4.45(2H, t), 2.82(4H, s)。

[0054]

0.6 gのグルタミン酸ジペプチド(Glu-Glu)を50 mlのリン酸バッファ溶液(0.1 M, pH 7.4)に溶解し、そこへ、4 gのメトキシポリエチレングリコールスクシンイミジルカーボネート(methoxypolyethylene glycol succinimidyl carbonate、分子量:5000、前工程で調製されたもの)を加えた。その溶液を室温で6時間撹拌し、ジクロロメタンで3回抽出した。その混合した有機相は無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒は、減圧下の回転蒸発により除去した。その残留物を100 mlのイソプロピルアルコールに加えた後、濾過した。その生成物を真空中で乾燥し、イオン交換クロマトグラフィーで精製した。収率: 3.6 g (90%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, Hs in PEG), 3.24(3H, s), 4.41 (2H, t), 2.32 (4H, t)。

【実施例2】

[0055]

#### ポリエチレングリコール-ジグルタミン酸オリゴペプチドの調製(2)

図1は、ポリエチレングリコール-ジグルタミン酸オリゴペプチドの合成方法を示す。3 20  
0 gのポリエチレングリコール(分子量: 35,000)と2 gのN,N'-ジスクシンイミジルカーボネートとを200 mlのアセトニトリルに溶解し、さらに、0.5 mlの乾燥ピリジンを加えた。反応混合物を窒素ガス保護下、室温、オーバナイトで撹拌した。過剰の溶媒を回転蒸発により除去し、その残留物を真空中で乾燥した。得られた固形物に50 mlの乾燥ジクロロメタンを加えた後、その混合物を濾過して未溶解物を除去した。その有機層を酢酸ナトリウムバッファ溶液(0.1 M, pH 5.5)で一度洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。その生成物をエーテルに移し、濾過し、真空中で乾燥した。収率: 27.2 g (90%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, Hs of PEG), 4.45 (4H, t), 2.82 (8H, s)。

[0056]

0.1 gのグルタミン酸のジペプチド(Glu-Glu)を20 mlのジメチルホルムアミドに溶解し、30  
この溶液に、上述のように調製された10 gのポリエチレングリコールスクシンイミジルカーボネート(polyethylene glycol succinimidyl carbonate、分子量:35,000)を加えた。反応混合物を室温で6時間撹拌した。固形沈殿物は濾過して除去した。その残留溶液を100 mlのイソプロピルアルコールで沈殿させ、濾過し、真空中で乾燥した。その生成物を、イオン交換クロマトグラフィーで精製した。収率: 4.2 g (40%)。NMR (DMSO): 3.5 (br m, Hs of PEG), 4.41 (4H, t), 2.37(4H, s), 2.32 (4H, t)。

【実施例3】

[0057]

#### メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとバクリタキセルとの結合生成物の調製(3)

図2は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとバクリタキセル(paclitaxel)との結合生成物(conjugate)の合成方法を示す。実施例1で調製された1.25 gのメトキシポリエチレングリコールジグルタミン酸ジペプチド、0.7 gのバクリタキセルおよび0.1 gの4-ジメチルアミノピリジン(4-dimethylamino pyridine:DMAP)を15 mlの乾燥ジクロロメタンに溶解し、そこへ、0.2 gのジシクロヘキシルカルボジイミド(dicyclohexylcarbodiimide:DCC)を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温、オーバナイトで撹拌した。過剰な溶媒は回転蒸発により除去し、その残留物を8 mlの1,4-ジオキサンに溶解した。この混合物を濾過し沈殿物を除去し、その溶液を濃縮した。30 mlのイソプロピルアルコールをその残留物に加え、濾過し、真空中で乾燥した。収率: 1.6 g (80%)。M.p.: 59~62℃。

【実施例 4】

【0058】

ポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとバクリタキセルとの結合生成物の調製 (4)

実施例 2 で調製された 4.0 g のポリエチレングリコールジグルタミン酸ジペプチド、0.4 g のバクリタキセルおよび 0.08 g の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) を 20 ml の乾燥ジクロロメタンに溶解した。その後、そこへ、0.15 g のジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温、オーバーナイトで攪拌し、過剰な溶媒は回転蒸発により除去した。その残留物を 10 ml の 1,4-ジオキサンに溶解し、濾過して沈殿物を除去し、その母液を濃縮した。その残留物を 50 ml のイソプロピルアルコールに加え、濾過した。その生成物を真空中で乾燥した。収率: 3.7 g (85%)。M.p.: 61~64℃。

【実施例 5】

【0059】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸ペプチドとカンプトテシンとの結合生成物の調製 (5)

図 3 は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸ペプチドとカンプトテシン (camptothecin) との結合生成物の合成を示す。0.7 g のカンプトテシンと 0.5 g の N-tert-ブチオキシルカルボキシルグリシン (N-tert-butylloxycarbonylglycine:BOC-gly) とを 10 ml の乾燥ジクロロメタンに溶解した。さらに、0.62 g のジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) と 0.36 g の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) を加えた。その反応混合物を室温、オーバーナイトで攪拌した。反応中に形成された固形物を濾過して除去し、母液を減圧下で濃縮した。その混合物を 50 ml のエーテルに加え濾過した。その沈殿物を回収し、真空中で乾燥した。

【0060】

0.5 g のカンプトテシン N-tert-ブチオキシルカルボキシルグリシンエステル (前工程で得たもの) を 10 ml のクロロホルムに溶解した。次に、10 ml のトリフルオロ酢酸を加えた。その反応混合物を室温で 5 時間攪拌し、減圧下で濃縮し、その後、50 ml のジエチルエーテルを加えた。その沈殿物を濾過により回収し、真空中で乾燥した。

【0061】

実施例 1 で調製した 2.5 g のメトキシポリエチレングリコールグルタミン酸ジペプチドと、0.6 g の置換カンプトテシン (前工程で得たもの)、および、0.2 g の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) を、30 ml の乾燥ジクロロメタンに溶解した。そこへ、0.4 g のジシクロカルボジイミド (DCC) を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温、オーバーナイトで攪拌した。過剰な溶媒を回転蒸発により除去し、その残留物を 15 ml の 1,4-ジオキサンに溶解した。沈殿物を濾過して除いた後、その母液を濃縮した。その残留物を 50 ml のイソプロピルアルコールに加え、濾過した。得られた固形物を真空中で乾燥した。生成物は、イオン交換クロマトグラフィーで精製できる。収率: 2.5 g (80%)。M.p.: 60~63℃。

【実施例 6】

【0062】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとシノブファギンとの結合生成物の調製 (6)

図 2 は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとシノブファギン (cinobufagin) との結合生成物の合成を示す。実施例 1 で調製した 1.0 g のメトキシポリエチレングリコールグルタミン酸ジペプチドを 10 ml のジクロロメタンに溶解した。そこへ、60 mg のシノブファギン、32 mg の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) および 40 mg のジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温、オーバーナイトで攪拌した。過剰な溶媒を回転蒸発により除去した。その残留物を 20 ml の 1,4-ジオキサンに溶解して濾過し、その母液を濃縮した。その残留物を 100 ml のイソプロピルアルコールに加えて濾過した。得られた固形生成物を真空中で乾燥した。収率 50

: 0.8 g (60%). M.p.: 58 ~ 80℃.

【実施例 7】

【0063】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとグリシレチン酸との結合生成物の調製 (7)

図 3 は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとグリシレチン酸 (glycyrrethinic acid) との結合生成物の合成を示す。実施例 1 で調製した 1.0 g のメトキシポリエチレングリコールグルタミン酸ジペプチドを 10 ml のジクロロメタンに溶解した。そこへ、0.2 ml の塩化チオニルを滴下して加えた。反応混合液を 2 時間攪拌した。溶媒および低沸点の不純物を、減圧下の蒸留により除去した。10 ml のジクロロメタンに溶解した 70 mg のグリシレチン酸溶液を攪拌しながら加えた。その後、60 mg の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温で 12 時間攪拌した。その溶媒を真空下で濃縮した。その残留物を 20 ml のイソプロピルアルコールに加えて濾過した。その沈殿物を回収し、ジエチルエーテルで洗浄し、吸気乾燥し、さらに、真空下で乾燥した。その生成物は、イオン交換クロマトグラフィーで精製できる。収率: 0.8 g (60%). M.p.: 60 ~ 62℃.

【実施例 8】

【0064】

メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとスコポレチンとの結合生成物の調製 (8)

図 2 は、メトキシポリエチレングリコール-グルタミン酸オリゴペプチドとスコポレチン (scopoletin) との結合生成物の合成を示す。実施例 1 で調製した 5 g のメトキシポリエチレングリコールグルタミン酸ジペプチドを 50 ml のジクロロメタンに溶解した。その後、0.70 g のスコポレチン、0.1 g の 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) および 0.82 g のジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) を加えた。その反応混合物を窒素ガス保護下、室温で 12 時間攪拌した。その溶媒を真空下で濃縮した。その残留物を 20 ml の 1,4-ジオキサンに加え、濾過した。その沈殿物を回収し、エーテルで洗浄し、吸気乾燥した。その母液を減圧下で蒸発させた。100 ml のイソプロピルアルコールをその残留物に加えた。沈殿物を回収し、ジエチルエーテルで洗浄し、真空下で乾燥した。その沈殿物を集結し、真空下で乾燥した。収率: 4 g (80%). M.p.: 58 ~ 61℃.

【実施例 9】

【0065】

この実施例では、典型的な非経口組成物の調製プロセスについて説明する。この組成物は、本発明の結合生成物を含む。

成分: 実施例 3 で調製した結合生成物 . . . 2 g

0.9% 食塩水 . . . 100 ml まで

実施例 3 で調製された結合生成物を 0.9% の食塩水に溶解し、100 ml の静脈注射用溶液を得た。これを、0.2 μm 膜で濾過し、無菌包装した。

【図面の簡単な説明】

【0066】


【図 1】図 1 は、PEG-グルタミン酸オリゴペプチド誘導体の合成を示す。

【図 2】図 2 は、PEG-グルタミン酸オリゴペプチド誘導体と薬剤とのエステル結合による結合生成物の合成を示す。

【図 3】図 3 は、その他の PEG-グルタミン酸オリゴペプチド誘導体と薬剤との結合生成物の合成を示す。



## [ 國際調查報告 ]

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN03/00164
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC C08G65/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC C08G,C08H,C08B,C08F		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE3730797 A (SIEGEL R) 23.Mar.1989(23.03.1989), Page2—3	1-19
A	WO9701631 A1 (DAIICHI PURE CHEM CO LTD) 16.Jan.1997(16.01.1997), Page2—11	1-19
A	JP60096605 A (MITSUBISHI CHEM IND LTD) 30.May.1985(30.05.1985), Page2—2	1-19
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the (international) filing date "L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application, but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search: 27.Mar.2002		Date of mailing of the international search report: 12 JUN 2003 12:06.03
Name and mailing address of the ISA/CN 8 Xincunheng Rd., Jincun Bridge, Haidian District, 100088 Beijing, China Facsimile No. 86-10-62019451		Authorized officer Li Li Telephone No. 86-10-62093079 

International application No.  
PCT/CN03/00164

Patent document cited in research report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE3730797 A	23.03.1989	none	
WO9701631 A1	15.01.1997	JP9009997 A	14.01.1997
		AU6138396 A	30.01.1997
		EP0835931 A1	15.04.1998
		US5879923 A	09.03.1999
JP60096605 A	30.05.1985	JP5018743B	15.03.1993

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1998)



## 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN03/00164

## A. 主建的分类

IPC7 C08G69/00

按照国际专利分类表(IPC)或者有时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域

IPC C08G, C08H, C08B, C08F

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

## C. 相关文件

类 别*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
A	DE3730797 A (SIEGEL R) 23.5 月 1989(23.03.1989), 说明书第 2-3 页	1-19
A	WO9701631 A1 (DAIICHI PURE CHEM CO LTD) 16.1 月 1997(16.01.1997), 说明书第 2-11 页	1-19
A	JP60096605 A (MITSUBISHI CHEM IND LTD) 30.5 月 1985(30.05.1985), 说明书第 2-3 页	1-19

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的专用类型:

“A” 明确叙述了被认为是特别相关的文献现有技术文件

“B” 在国际申请之前或之后公布或公开的在先的专利申请

“L” 可引用对权利要求要求的特殊文件, 先确定另一篇引用文件的公布日期引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日或迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在专利申请优先权日之前公布或在后文件, 它“申请不须接触, 但引用它是为了证明构成发明基础的现有技术或发明”

“X” 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 在考虑所记载的发明时不能认为是重要的或不认为是有益的

“Y” 特别相关的文件, 该文件与另一篇或多篇该文件组合并且这种组合对于本领域技术人员为显而易见, 获得要求记载的发明不具有创造性

“E” 所要求专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

27.3 月 2003(27.3.2003)

国际检索报告邮寄日期

12. 04 2003 (12.04.03)

国际检索单位名称和邮寄地址

ISA/CN

中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)

传真号: 86-10-62019451

受权官员

李丽

电话号码: 86-10-62093079



国际检索报告  
关于国际专利成员国的出报

国际申请号  
PCT/CN03/00164

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	国际专利成员	公布日期
DE3730797 A	23.03.1989	无	
WO9701631 A1	16.01.1997	JP9009997 A	14.01.1997
		AU6138396 A	30.01.1997
		EP0835931 A1	15.04.1998
		US5879933 A	09.03.1999
JP60096605 A	30.05.1985	JP5018843B	15.03.1993

## フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>1</sup>	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 9/14	A 6 1 K 9/14	
A 6 1 K 9/20	A 6 1 K 9/20	
A 6 1 K 9/48	A 6 1 K 9/48	
C 0 8 G 81/00	C 0 8 G 81/00	

(81) 指定国 AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, M W, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

F ターム (参考) 4C076 AA01 AA11 AA22 AA24 AA29 AA37 AA53 CC41 EE59M EE59N  
FF31 FF34 FF63 FF67  
4J031 AA04 AA15 AA20 AA53 AA55 AB01 AB04 AB06 AC08 AD01  
AE19 AF03 CD10

## 【要約の続き】

、薬剤放出を維持、制御できる。また、前記結合生成物は、特に、例えば、バクリタキセル、カンプトテシン等のような抗腫瘍剤に対して、著しい増強効果がある。